



HAL
open science

Botrytis, la vigne voit double

Anne Sophie A. S. Walker, Elisabeth Fournier

► **To cite this version:**

Anne Sophie A. S. Walker, Elisabeth Fournier. Botrytis, la vigne voit double. *Phytoma la Défense des Végétaux*, 2012, 659 (Décembre), pp.17-21. hal-01019468

HAL Id: hal-01019468

<https://hal.science/hal-01019468>

Submitted on 28 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Botrytis, la vigne voit double

Botrytis pseudocinerea, une nouvelle espèce distincte de *B. cinerea*, responsable de la pourriture grise de la vigne. ANNE-SOPHIE WALKER* ET ÉLISABETH FOURNIER**,

D'APRÈS LEUR COMMUNICATION À LA 10^e CIMA, LES 3, 4 ET 5 DÉCEMBRE 2012

Une existence prouvée mais pas officialisée, telle était le statut de l'espèce « *Botrytis* groupe I » en 2006. Bien que révélée, cette nouvelle espèce de *Botrytis*, différente de *Botrytis cinerea* au sens strict, n'avait jamais été caractérisée de manière formelle. Ce travail vise à établir définitivement le groupe I de *Botrytis* comme nouvelle espèce, en utilisant les critères cités dans l'encadré 1. Le nom proposé est *B. pseudocinerea* (tel. *Botryotinia pseudofuckeliana*).

Des souches et des critères

Souches de collection et collecte en Champagne

Nous avons analysé des souches pures du genre *Botrytis* issues des collections de l'INRA Bioger ou de collections internationales. Ces souches ont servi pour la caractérisation fine utilisant les 4 critères d'espèce définis dans l'encadré 1.



Nous avons également collecté 1 088 souches champenoises, soit sur vigne, soit sur ronce, entre l'automne 2005 et le printemps 2007 (4 dates de collecte) des populations de *Botrytis* sp., afin d'estimer la structure des populations naturelles.

Critère phylogénétique : trois gènes séquencés, arbre établi

Nous avons actualisé la phylogénie du genre *Botrytis*, en intégrant de nouvelles souches du groupe II et des souches du groupe I dans celle préalablement établie (Staats *et al.*, 2005).

Nous avons séquencé 3 gènes choisis comme bons marqueurs phylogénétiques (G3PDH, HSP60, MS47) puis établi un arbre phylogénétique pour chaque gène selon la méthode du maximum de vraisemblance.

Nous avons ensuite comparé la topologie de ces arbres pour vérifier leur congruence (indice Icong) puis nous avons établi un arbre consensus en concaténant les séquences individuelles des trois gènes.

Nous avons enfin testé une horloge moléculaire afin d'estimer le temps de divergence entre les espèces des groupes I et II.

Critère biologique : croisements mais aussi profils alléliques

Après avoir déterminé leur type sexuel, nous avons réalisé des croisements inter et intra-groupes selon une méthode précédemment établie (Farettra *et al.*, 1988). Pour chaque croisement, et après incubation de 4 à 6 mois, nous avons observé la production d'apothécies, organes de la reproduction sexuée chez *Botrytis*.

SUMMARY

BOTRYTIS PSEUDOCINEREA, A NEW SPECIES DISTINCT FROM B. CINEREA CAUSING GREY MOULD ON GRAPEVINE

Grapevine grey mould is caused by a complex of two cryptic species living in sympatry. *Botrytis cinerea* is the main species, responsible for the damages observed at vintage. *B. pseudocinerea* is the newly described species, present at low frequency in populations but with a higher Spring abundance. This paper aims to establish this second entity, previously known as *Botrytis* group I, as a separate species, while comparing it to *B. cinerea* with phylogenetic, biological, morphological and ecological criteria. *B. pseudocinerea* (tel. *Botryotinia pseudofuckeliana*) is now a fully described species, available in international collections.

KEY WORDS : *Botrytis cinerea*, *Botrytis pseudocinerea*, species complex, speciation, phylogeny.

RÉSUMÉ

■ DÉCOUVERTE : La pourriture grise de la vigne est générée, non pas par une seule espèce de champignon nommée *Botrytis cinerea*, mais par un complexe de deux espèces cryptiques, vivant en sympatrie (termes expliqués dans l'article).

■ DESCRIPTION : *Botrytis cinerea* est l'espèce majoritaire. Pour sa part *B. pseudocinerea* constitue l'espèce nouvellement décrite. Cet article a pour objectif d'établir cette seconde entité précédemment décrite comme « *Botrytis* groupe I » en tant qu'espèce distincte, en la comparant à *B. cinerea* sur le plan phylogénétique, biologique, morphologique et écologique.

B. pseudocinerea (tel. *Botryotinia pseudofuckeliana*) est maintenant une espèce officiellement décrite, disponible dans les collections internationales.

■ EN PRATIQUE : Les comportements de deux espèces sont évoqués, en terme de présence (*B. pseudocinerea* est minoritaire dans les populations et présente surtout au printemps), de nuisibilité pour la vigne (*B. cinerea* est responsable des dégâts à la vendange), de résistance aux fongicides et de conséquences pratiques pour la gestion de la maladie au vignoble.

■ MOTS-CLÉS : *Botrytis cinerea*, *Botrytis pseudocinerea*, complexe d'espèces, spéciation, phylogénie.



1- De l'origine... à la définition... des espèces

Qu'est-ce qu'une espèce ?

Après large débat, la communauté scientifique a abouti récemment à la définition illustrée figure 1 : « Une espèce est constituée d'un sous-ensemble d'organismes, connecté à d'autres sous-ensembles au sein du réseau généalogique du vivant, et délimité par deux événements de spéciation ou un événement de spéciation et un autre d'extinction » (Samadi & Barberousse 2006). La spéciation devient une division définitive du réseau généalogique.

En pratique, la définition de l'espèce a longtemps été confondue avec les critères utilisés pour la reconnaître et la délimiter. Tout critère permettant de montrer qu'un ensemble d'individus appartient à une communauté de reproduction ayant une histoire évolutive autonome est pertinent.

Les méthodes et la difficulté d'observation pouvant varier selon les espèces, il est normal de constater qu'aucun critère n'est satisfaisant pour tous les organismes. Plusieurs critères sont généralement utiles pour caractériser une nouvelle espèce.

Champignons, les quatre critères

Parmi tous les critères disponibles, quatre sont d'un intérêt particulier chez les champignons (Giraud *et al.*, 2008) :

- Le critère biologique, basé

sur l'observation de l'interfécondité. L'incompatibilité reproductrice (ou isolement reproducteur) de deux ensembles d'individus confirme qu'ils sont divergents. Mais en pratique, on peut parfois croiser au laboratoire certaines espèces de champignons et observer la production d'une descendance.

- Le critère phénétique, basé sur l'observation des ressemblances morphologiques héréditaires au sein d'un ensemble. La description des structures sexuées et asexuées est traditionnellement la base de la reconnaissance en mycologie.

- Le critère écologique, basé sur la capacité d'un ensemble d'individus à s'adapter à une niche écologique particulière. Très pertinent pour les champignons vu leur grande variabilité de styles de vie (parasitisme, saprophytisme ou symbiotisme).
- Le critère phylogénétique, basé sur la mesure de la divergence entre les séquences d'ADN des individus ; fort commode car universel et très discriminant.

C'est quoi, la sympatrie ?

Par ailleurs, plusieurs modes de spéciation sont observés chez les champignons.

La spéciation est dite allopatrique lorsque les deux groupes se différencient dans des lieux séparés par des barrières géographiques (océans, montagnes), empêchant le flux de gènes entre les entités et entraînant donc l'isolement reproducteur.

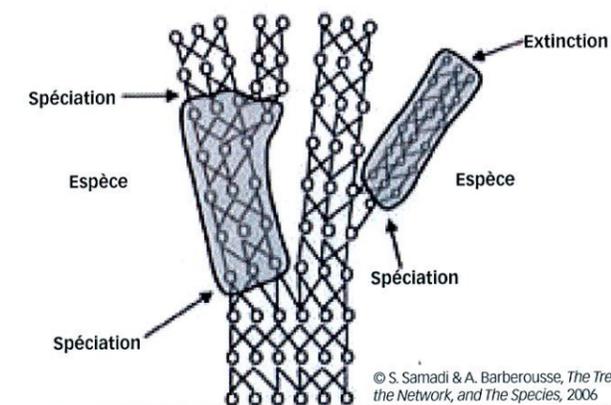
À l'inverse, si l'isolement reproducteur est généré en l'absence de barrière évidente au flux de gènes et possiblement sur le même hôte, on parle de spéciation sympatrique (Giraud *et al.*, 2008).

Ce mode de spéciation est relativement fréquent chez les champignons qui, en s'adaptant à des plantes hôtes spécifiques, finissent par isoler des populations distinctes pouvant cohabiter dans un même paysage.

Fig. 1 : Espèce : définition.

D'après Samadi & Barberousse, 2006.

Les espèces sont indiquées dans des ensembles grisés. Les cercles représentent des individus et les traits les relations de parenté entre ces individus. Une espèce est délimitée dans le temps par un événement de spéciation (origine) et un événement d'extinction ou d'une nouvelle spéciation.



© S. Samadi & A. Barberousse, *The Tree, the Network, and The Species*, 2006

Nous avons également étendu ce critère au niveau populationnel, en établissant le profil allélique des 1 088 individus de populations naturelles pour 8 loci microsatellites neutres (Fournier *et al.*, 2002) et en recherchant la présence de l'élément transposable flipper. Nous avons ensuite utilisé une méthode d'assignation (logiciel *Structure*) afin d'affecter les individus dans des clusters génétiquement stables. Puis nous avons mesuré la diversité génétique dans ces clusters cohabitant dans les populations naturelles de pourriture grise, estimant ainsi les potentialités de recombinaisons génétiques dans la nature.

Critère phénétique : aspects visibles

Nous avons mesuré le diamètre et la surface des conidies (spores asexuées) dans des conditions standardisées de souches des groupes I et II.

Les caractères morphologiques des colonies, du mycélium, des conidies, apothécies et spermaties ont été observés par une spécialiste de la taxonomie des champignons pour établir la diagnose latine nécessaire à l'établissement de toute nouvelle espèce. Enfin, nous avons mesuré en conditions standardisées le taux de germination et la vitesse de croissance sur milieu PDA.

Critère écologique : comportement au champ et en conditions contrôlées

Nous avons noté l'abondance relative des deux espèces au cours du temps, au sein d'une population naturelle, collectée sur matériel soit vivant (baies infectées à l'automne), soit mort (pièces florales sèches au printemps). De plus, nous avons mesuré la vitesse de croissance sur des milieux synthétiques

plus ou moins riches en sucres et à diverses températures (plage allant de 7 °C à 27 °C, pour un optimum connu à 20 °C pour cette espèce).

Nous avons aussi noté la production de sclérotos (forme de conservation du champignon) produits à différentes températures par les souches des deux espèces.

Enfin, nous avons évalué l'agressivité des isolats des deux groupes en les inoculant sur feuilles de haricot et de tomate et en mesurant le diamètre des nécroses générées.

Résultats selon le critère phylogénétique

Deux espèces distinctes

Les arbres individuels construits pour les gènes G3PDH, HSP60 et MS547, ainsi que l'arbre concaténé construit à partir des séquences précédentes, montrent des topologies congruentes, de manière significative

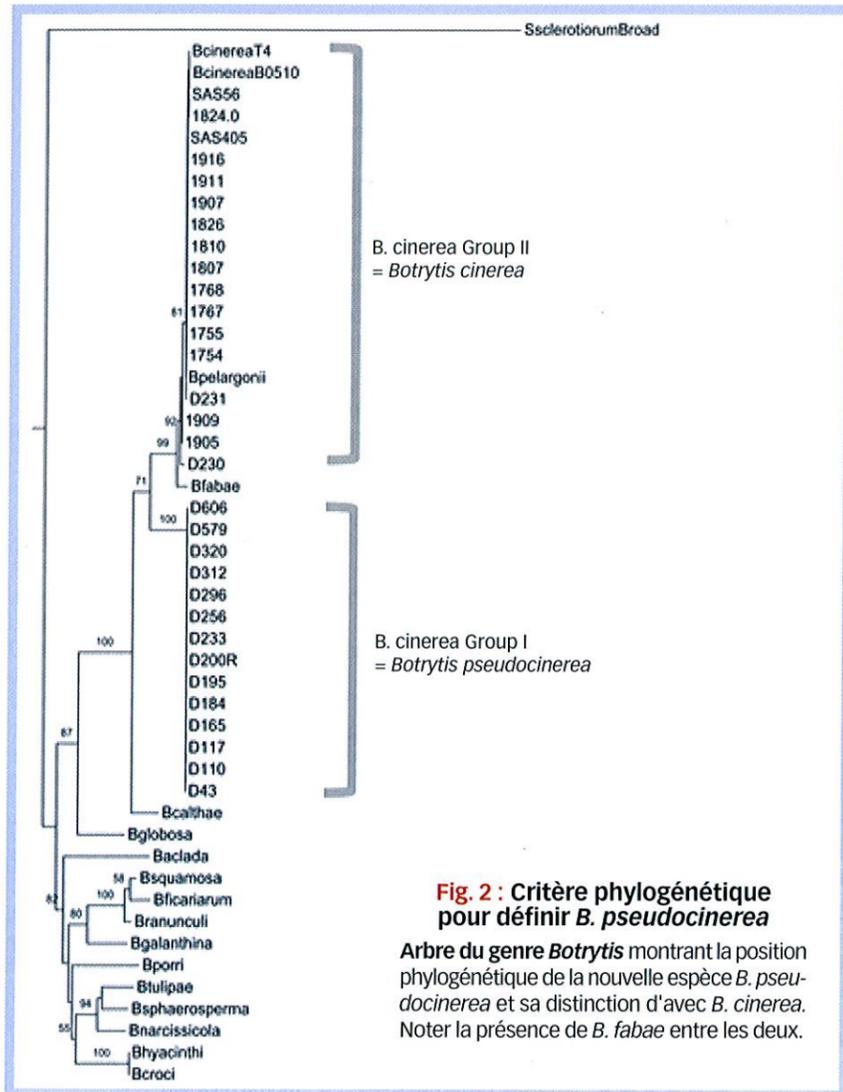


Fig. 2 : Critère phylogénétique pour définir *B. pseudocinerea*

Arbre du genre *Botrytis* montrant la position phylogénétique de la nouvelle espèce *B. pseudocinerea* et sa distinction d'avec *B. cinerea*. Noter la présence de *B. fabae* entre les deux.

[indice Icong ; détails dans (Walker *et al.*, 2011) ; arbre consensus reproduit Figure 2]. Les souches du groupe I forment un clade proche mais distinct de *B. cinerea*, fortement différencié par une valeur de bootstrap de 100 %, ce qui caractérise en général deux espèces différentes.

Cet arbre a été construit à partir des séquences concaténées obtenues pour les gènes G3PDH, HSP60 et MS547, soit une séquence concaténée de 2 492 paires de bases.

L'arbre consensus a été obtenu grâce à la méthode du maximum de vraisemblance (modèle HKY +I +G). Des permutations aléatoires des branches de l'arbre (100) permettent d'estimer le nombre de fois où une branche considérée est réellement

considérée dans l'arbre. Plus cette valeur de bootstrap est forte, plus la structure de l'arbre est solide. La séquence concaténée équivalente de *Sclerotium sclerotiorum* (espèce proche de *B. cinerea*) sert à enraciner l'arbre.

Même pas sœurs !

Fait surprenant, ces deux espèces ne sont pas des espèces sœurs : *B. cinerea* est plus proche de *B. fabae* que de *Botrytis* groupe I. Les tests statistiques confirment l'hypothèse d'une vitesse d'évolution moléculaire constante sur toutes les branches de l'arbre.

Cette « consultation de l'horloge moléculaire » permet d'estimer un temps de divergence entre les deux espèces de 7 à 18 millions d'années.

Le marqueur *vacuma/transposa* est obsolète car les deux espèces ont des souches des deux types.

Selon le critère biologique

Deux espèces qui ne se croisent pas...

Nous avons réalisé 69 croisements intra et interspécifiques (8 croisements intra-groupe II, 50 croisements intra-groupe I et 11 croisements inter-groupes), dont 26 croisements témoins (Walker *et al.*, 2011). Seuls les croisements intra-groupe ont fourni des apothécies matures et viables, *i.e.* contenant des ascospores issues de la reproduction sexuée et capables de produire des colonies vivantes. Un unique croisement groupe II x groupe I a produit quelques apothécies... mais vides (sans ascospores) et avortées.

Côté flux de gènes

En complément de ces croisements inter-individus, nous avons étendu le critère biologique au niveau populationnel en utilisant des marqueurs microsatellites neutres et des outils de génétique des populations pour estimer les flux de gènes entre les deux groupes. L'analyse par le logiciel Structure (qui assigne sans *a priori* les individus dans des clusters génétiquement homogènes) a décelé deux clusters. Le cluster I ne contient que des individus du groupe I et le cluster II des individus du groupe II (Figure 3). Cette assignation stricte en deux clusters indépendants montre bien l'indépendance génétique entre les deux groupes.

Sous-clusters décelés et marqueurs obsolètes

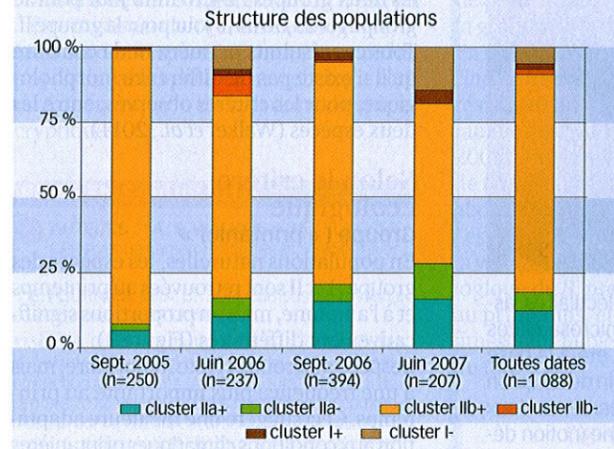
Une analyse du cluster II permet de le subdiviser en deux sous-clusters : IIa qui contient principalement des individus collectés sur ronce et IIb contenant principalement des individus collectés sur vigne. Cette seconde subdivision confirme l'adaptation à l'hôte déjà démontrée (Fournier & Giraud, 2008) chez *B. cinerea*.

La figure 3 montre l'évolution dans le temps de la taille de chaque cluster (cluster I : souches du groupe I ; cluster IIa : souches du groupe II collectées majoritairement sur ronce ; cluster IIb : souches du groupe II collectées majoritairement sur vigne). Pour chaque cluster, une couleur différente distingue les souches comportant l'élément transposable flipper (+) ou non (-).

L'espèce groupe I (cluster I) est minoritaire quelle que soit la date de collecte. L'élément transposable flipper est détecté dans tous les clusters, à fréquence forte pour les clusters II (davantage de IIa+ et IIb+ que de IIa- et IIb- respectivement) et faible pour le cluster I (davantage de Ia- que de Ia+). Ce résultat contredit les observations faites auparavant à partir d'un nombre limité de souches du groupe I, toutes trouvées *vacuma*. Ainsi, le marqueur *vacuma/transposa* est obsolète et ne doit plus être utilisé pour caractériser les deux espèces et, plus largement, les populations de pourriture grise.

Fig. 3 : Critère biologique, juin n'est pas septembre.

Évolution de la structure des populations de *Botrytis* sp. au cours du temps. *B. pseudocinerea* regroupe les clusters « I+ » et « I- ».



Des populations génétiquement diversifiées

La richesse clonale mesure, dans chaque cluster, la proportion de génotypes multilocus (ou GML = combinaison unique d'allèles aux 8 loci génotypés) distincts par rapport au nombre total d'individus. En d'autres termes, cet indice mesure la proportion de clones différents dans un cluster. Cette proportion est proche de 1 pour les clusters I et IIa et de 0,75 pour le cluster IIb. Pour ces 3 clusters, la proportion de clones est donc faible (Figure 4).

Ceci indique des populations très diversifiées génétiquement, subissant probablement d'importants flux migratoires ainsi qu'une recombinaison génétique liée à une reproduction sexuée intense. Ainsi, les compartiments hébergeant les espèces des groupes I et II sont donc étanches mais, en revanche, leurs populations ont des comportements similaires.

Selon le critère phénétique

Aspect visuel, pas de différence significative

La mesure du grand diamètre des conidies elliptiques des individus des deux groupes, évaluée en conditions standardisées, ne montre pas de différence significative ($12,04 \pm 1,55 \mu\text{m}$ pour le groupe I et $11,86 \pm 1,45 \mu\text{m}$ pour le groupe II). La mesure des surfaces de conidies ne permet pas non plus de distinguer les deux groupes ($91,29 \pm 21,85 \mu\text{m}^2$ pour le groupe I

contre $87,77 \pm 18,84 \mu\text{m}^2$ pour le groupe II). L'analyse fine des mesures, de la morphologie et de la couleur des différents organes des deux espèces n'a pas montré de différence majeure (Figure 5 page suivante). En revanche, elle a permis d'établir la diagnose latine de la nouvelle espèce *B. pseudocinerea*.

Cette espèce est déposée maintenant officiellement dans une collection internationale (Mycobank ; n° MB 561818).

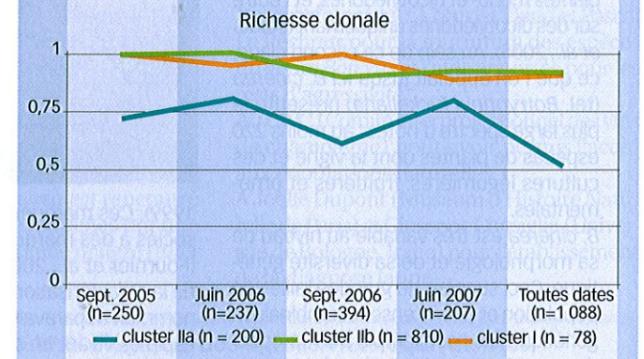
Sporulation et croissance

Nous n'avons pas observé non plus de différence de taux de sporulation des deux

Fig. 4 : Critère biologique, suivi de la diversité.

Évolution de la proportion de clones dans les 3 clusters de *Botrytis* sp. au cours du temps.

La richesse clonale (G/N soit le nombre de combinaisons uniques d'allèles sur les 8 loci testés, par rapport au total des individus d'un cluster) mesure la proportion de clones différents dans un cluster et augmente avec elle (1 = diversité maximale).



Busés antidérives IDK

UN MODÈLE DE PRÉCISION

Régularité

Buse à injection d'air compacte, large plage de débit/pression pour chaque couleur.

Résistance

Longévité de la céramique, nettoyage facilité, risque d'accrochage et de casse réduit.

Répartition

Rapport dérive/nombre de gouttes/cm² optimal. Excellente répartition sous les rampes des pulvérisateurs.

Rigueur

Faible dérive, basse pression d'utilisation, bonne pénétration dans la masse foliaire.

Présent à
**POTATO
EUROPE**



Tél. 01 49 88 26 00 - Fax 01 49 88 26 09 - www.lechler-agri.com - info@lechler.fr



2- Un peu d'histoire de Botrytis

Une phylogénie récente montre que le genre *Botrytis* (*Ascomycota*) est constitué de deux clades, l'un groupant des espèces capables de se développer sur des plantes mono- et dicotylédones, et l'autre sur des dicotylédones uniquement (Staats *et al.*, 2005). Au sein de ce second clade, ce que l'on appelait jusqu'ici *B. cinerea* (tel. *Botrytinia fuckeliana*) présente le plus large spectre d'hôtes : au moins 220 espèces de plantes dont la vigne et des cultures légumières, fruitières et ornementales.

B. cinerea est très variable au niveau de sa morphologie et de sa diversité génétique. Ceci suggère de grandes tailles de population et une intense recombinaison génétique liée par exemple à la reproduction sexuée (Fournier & Giraud, 2008). Depuis longtemps, les éléments transposables (*i.e.* des séquences d'ADN capables de se déplacer et se multiplier de manière autonome dans le génome) boty et flipper sont utilisés pour discriminer les individus de *B. cinerea*, nommés *transposa* s'ils en contiennent et *vacuma* s'ils n'en contiennent pas (Giraud *et al.*,



1999). Ces marqueurs moléculaires, associés à des marqueurs microsatellites (Fournier *et al.*, 2002) ont été à la base de la caractérisation, au sein de ce qu'on nommait auparavant *B. cinerea*, de deux espèces vivant en sympatrie (notion définie encadré 1) :

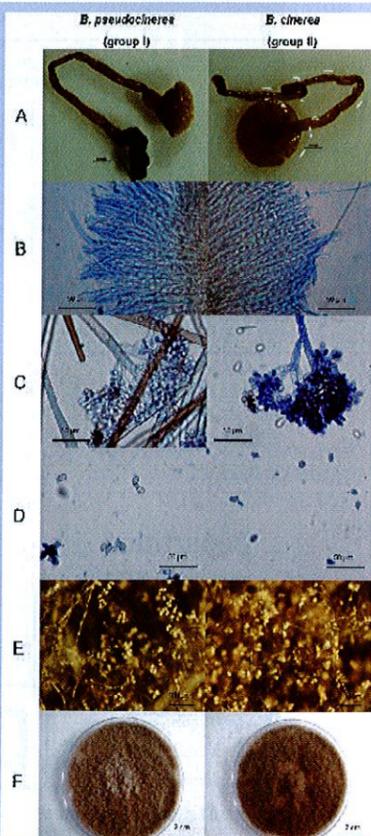
1) *B. cinerea stricto sensu* ou groupe II, espèce dominante dans les populations et contenant des souches *transposa* et des souches *vacuma* et
2) *Botrytis* groupe I, espèce minoritaire, supposée au début ne contenir que des souches de type *vacuma* (Fournier *et al.*, 2005 ; Leroux *et al.*, 2006).

Fig. 5 : Critère phénétique, les Botrytis mis en miroir.

Caractéristiques morphologiques de *Botrytis pseudocinerea* (à gauche) et de *Botrytis cinerea* (à droite).

A : Apothécies, structures sexuées de *Botrytis* sp. ;
B : Asques, contenant les ascospores (spores sexuées), observées après dissection des apothécies ;
C : Conidiophores en arbuscule, portant les conidies ;
D : conidies (spores asexuées) ;
E : mycélium sporulant (10 jours) ;
F : culture de 10 jours sur milieu malt-levure.

Difficile de les différencier ainsi !



Observation des souches VD256 (*B. pseudocinerea*) et 1810 (*B. cinerea*). Coloration au bleu coton pour les observations microscopiques.

espèces sur milieu PDA solide (en moyenne 96,58 % pour le groupe I et 94,60 % pour le groupe II).

La vitesse moyenne de croissance sur PDA n'était pas significativement différente entre les deux groupes : 24,10 mm/jour pour le groupe I et 25,56 mm/jour pour le groupe II. Tous ces résultats permettent de conclure qu'il n'existe pas de différence morphologique, pour les critères observés, entre les deux espèces (Walker *et al.*, 2011).

Selon le critère écologique

Groupe I « printanier »

En populations naturelles, les espèces des groupes I et II sont retrouvées au printemps et à l'automne, mais en proportions significativement différentes (Figure 3). L'espèce du groupe I reste minoritaire, mais à une fréquence plus importante au printemps. Ceci suggère une meilleure adaptation aux conditions climatiques printanières et/ou une meilleure capacité à consommer du matériel végétal mort (capuchons floraux).

Au laboratoire, même agressivité

Nous avons donc cherché à préciser ce point en mesurant l'agressivité sur feuilles de tomate ou de haricot détachées et maintenues en survie.

Nous n'avons pas observé de différence significative entre les deux groupes dans leur capacité à produire des lésions sur les feuilles des deux hôtes (Figure 6).

De même, la vitesse de croissance mesurée à une température donnée, et pour un milieu nutritif donné n'était pas significativement différente entre les deux espèces. L'effet de la température et de la richesse du milieu synthétique avaient le même effet significatif sur la croissance des deux espèces (optimum de croissance à 20 °C sur le milieu le plus riche, comme attendu).

De manière similaire, nous n'avons pas observé de variation significative de la production de sclérotés entre les deux espèces (Walker *et al.*, 2011).

Ainsi, les espèces *B. cinerea* groupe I et II semblent avoir des exigences écologiques distinctes (phénologies différentes), mais nous n'avons pas pu identifier les facteurs responsables de ces adaptations.

Conclusion

Deux espèces dont un nouvellement défini

La pourriture grise de la vigne est causée par un complexe d'au moins deux espèces vivant en sympatrie, *B. cinerea* (espèce dominante) et *B. pseudocinerea* (espèce minoritaire nouvellement décrite). Ces deux espèces sont distinguées par :

– leur position différente dans la phylogénie (critère phylogénétique),



– leur incapacité à produire une descendance fertile, avec incapacité des populations respectives à échanger des gènes (critère biologique),
– leurs exigences écologiques, même si les raisons de cette différenciation n'ont pu être mises au clair (critère écologique). Mais ces deux espèces ne sont, en revanche, pas distinguables par leur morphologie (critère phénétique) : il s'agit donc d'espèces cryptiques.

POUR EN SAVOIR PLUS

AUTEURS : *A. S. WALKER, INRA, UR BIOGER-CPP, Avenue Lucien-Bretignières, 78850 Thiverval-Grignon.

**E. FOURNIER, INRA, UR BGPI, Campus international de Baillarguet, 34398 Montpellier.

***CIMA, Conférence internationale sur les maladies des plantes. Organisée par l'Association française de protection des plantes (AFPP), à Tours, du 3 au 5 décembre 2012. On trouve dans ses annales la communication dont a été tiré cet article, ainsi que celle d'Azeddine S., Walker A.-S. et Flinger S. sur la caractérisation du gène responsable de la résistance au fenhexamid chez *B. pseudocinerea*.

CONTACTS :

– walker@versailles.inra.fr
– afpp@afpp.net

BIBLIOGRAPHIE : – Azzeddine S., Walker A.S., Flinger S., 2012 - Caractérisation du gène cyp684 responsable de la résistance au fenhexamid chez *Botrytis pseudocinerea*. In: 10^e conférence internationale sur les maladies des céréales. AFPP, Tours, France, 3-5 décembre 2012.

– Farettra F., Antonacci E., Pollastro S., 1988 - Sexual behaviour and mating system of *Botrytinia fuckeliana*, teleomorph of *Botrytis cinerea*. *Journal of General Microbiology* 134, 2543-2550.

– Fournier E., Giraud T., 2008 - Sympatric genetic differentiation of a generalist pathogenic fungus, *Botrytis cinerea*, on two different host plants, grapevine and bramble. *Journal of Evolutionary Biology* 21, 122-132.

– Fournier E., Giraud T., Albertini C., Brygoo Y., 2005 - Partition of the *Botrytis cinerea* complex in France using multiple gene genealogies. *Mycologia* 97, 1251-1267.

– Fournier E., Giraud T., Loiseau A., *et al.*, 2002 - Characterization of nine polymorphic microsatellite loci in the fungus *Botrytis cinerea* (*Ascomycota*). *Molecular Ecology Notes* 2, 253-255.

– Giraud T., Fortini D., Levis C., *et al.*, 1999 - Two sibling species of the *Botrytis cinerea* complex, *transposa* and *vacuma*, are found in sympatry on numerous host plants. *Phytopathology* 89, 967-973.

– Giraud T., Refregier G., Le Gac M., de Vienne D.M., Hood M.E., 2008 - Speciation in fungi. *Fungal Genetics and Biology* 45, 791-802.

Leroux P., Fritz R., Debieu D., *et al.*, 2002 - Mechanisms of resistance to fungicides in field strains of *Botrytis cinerea*. *Pest Management Science* 58, 876-888.

– Leroux P., Gredt M., Walker A.S., Panon M., 2006 - Botrytis de la vigne et neuf sortes de fungicides : distribution des souches résistantes en Champagne. *Phytoma-La Défense des végétaux* 599, 22-27.

– Samadi S., Barberousse A., 2006 - The tree, the network, and the species. *Biological Journal of the Linnean Society* 89, 509-521.

– Staats M., van Baarlen P., van Kan J.A.L., 2005 - Molecular phylogeny of the plant pathogenic genus *Botrytis* and the evolution of host specificity. *Molecular Biology and Evolution* 22, 333-346.

– Walker A.-S., Gautier A., Confais J., *et al.*, 2011 - *Botrytis pseudocinerea*, a new cryptic species causing gray mold in French vineyards in sympatry with *Botrytis cinerea*. *Phytopathology* 101, 1433-1445.

La pratique et la surprise

En pratique, il est peu probable que *B. pseudocinerea*, de phénologie plutôt printanière et d'abondance faible (fréquence < 10 %) participe de façon importante aux dégâts de pourriture grise sur raisin. Ceci facilite la gestion de la maladie au vignoble. En revanche c'est surprenant car *B. pseudocinerea* a été décrite comme naturellement résistante au fenhexamid (fongicide de la famille des hydroxylanilides) (Leroux *et al.*, 2002). Ce dernier, appliqué surtout en fin de floraison de la vigne quand l'espèce est abondante, devrait la sélectionner.

Les plus faibles fréquences de cette espèce à la vendange suggèrent que l'optimum écologique de *B. pseudocinerea* est rencontré au printemps, et que ces souches ont une fitness plus faible à l'automne malgré l'effet du fongicide.

Enfin, si cette résistance naturelle est à ce jour le seul marqueur phénotypique permettant de distinguer les deux espèces, de nombreux marqueurs moléculaires sont disponibles pour discriminer et quantifier les deux espèces dans les populations (Azzeddine *et al.*, 2012 ; Leroux *et al.*, 2002).

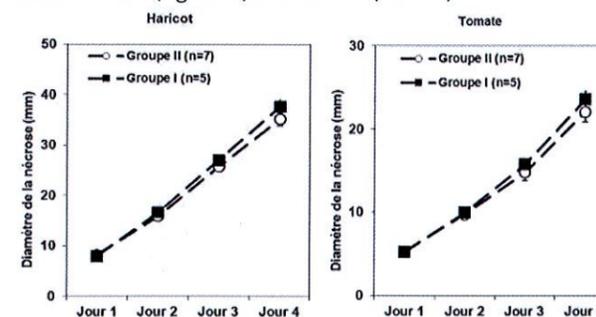
Remerciements : À Muriel Viaud et Pascal Le Pêcheur pour la fourniture des espèces du genre *Botrytis* et l'aide apportée pour les tests d'agressivité.

Au CIVC (Comité interprofessionnel des vins de champagne) pour avoir permis l'accès aux populations naturelles.

À Joëlle Dupont (Muséum d'Histoire Naturelle de Paris) et Giuseppe Consiglio (Université de Bologne, Italie) pour l'établissement de la diagnose latine.

Fig. 6 : Critère écologique, des agressivités équivalentes.

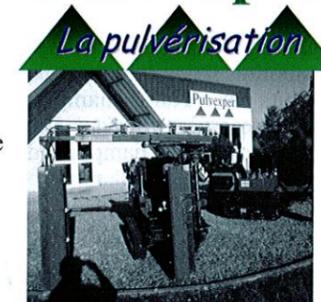
Comparaison de l'agressivité de *B. cinerea* (groupe II) et *B. pseudocinerea* (groupe I) sur feuilles de tomate (à gauche) et de haricot (à droite).



NOUVEAUTE ! Pulvexper

Matériel automoteur Vigne, Arboriculture, Maraîchage

- Adapté à tous types de vigne
- Passage instantané de la vigne à l'arboriculture
- Transportable dans une camionnette
- Pulvérisation face/face
- Traitement parcelle/parcelle
- 15 modalités embarquées
- Récupération de tous les rinçages



Enregistrement de toutes les informations liées au traitement par modalité :

- L/mn, Volume épandu, Temps de pulvérisation, Température, Hygrométrie, Vent, Date, Heure...

- Transfert sur clé USB en fin de traitement

PRESENT à l'AFMEX

EURL PULVEXPER
ZA Rue Martel 10240 RAMERUPT
Tél : 03.25.47.30.21 www.pulvexper.com

